

1952

Clyde. P. Rowe



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM ANATOMISCHEN INSTITUT DER
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT ZU MAINZ (RHEIN)
(Direktor: Dr. med. Dr. phil. nat. Dr. med. h. c. Adolf Dabelow)

Ausgeführt auf Anregung und unter Anleitung von
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Joachim-Hermann Scharf, jetzt Jena

NACHWEIS EINZELNER FERMENTE UND KOHLENHYDRATE

IN SENSIBLEN GANGLIENZELLEN

DES GANGLION SEMILUNARE BEIM RIND

Der Hohen Medizinischen Fakultät
zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

CLYDE P. ROWE aus New York

MAINZ 1957



Referent: Professor Dr. J. -H. Scharf

Korreferent: Professor Dr. M. Watzka

Tag der mündlichen Prüfung: 29. 10. 1958

Datum des Diploms 29. Okt. 1958

A) EINLEITUNG

In der Literatur existieren bisher nur wenige histotopochemische Arbeiten über die Spinalganglien, wenn man von rein cytologischen Untersuchungen des GOLGI-Apparates oder der Mitochondrien absieht. Insbesondere fehlen Bearbeitungen der Kohlenhydrat- und Fermentverteilung. SCHARF (1951, 1957) berichtete über eigene Lipoidbestimmungen mit topochemischen Methoden, SCHARF und OSTER (1957) untersuchten kürzlich die physikochemischen Voraussetzungen für das Fluoreszenzverhalten der Spinalganglienzellen. Die wenigen vorliegenden Arbeiten anderer Autoren sind bei SCHARF (1957) aufgeführt. Sie brauchen daher an dieser Stelle nicht noch einmal vollständig zitiert zu werden. Die im Rahmen dieser Untersuchung interessierenden Befunde anderer Forscher werden im Verlaufe dieser Arbeit den eigenen Ergebnissen gegenübergestellt.

Seit FLEMMING (1882) und KONEFF (1887) sowie FLESCH und KONEFF (1886) wird wiederholt von den verschiedensten Autoren über das Vorkommen zweier Zelltypen im Spinalganglion berichtet, der "hellen" und der "dunklen" Zelle. Einige Autoren nehmen an, daß es sich hierbei um Funktionszustände eines einheitlichen Zelltyps handelt (z.B. NISSL 1894), andere glauben an Artefakte (FISHER und RANSON 1934). Eine dritte Meinung geht dahin, daß die kleinen "dunklen" Zellen unreife Elemente repräsentieren (HATAI 1901, 1902, 1903). Die vorliegende Studie soll entscheiden, ob "dunkle" und "helle" Zellen reellen Typen entsprechen oder als Artefakte zu deuten sind.

Topochemischen Unterschieden in der Verteilung von Fermenten und Kohlenhydraten könnte eine große Bedeutung im Sinne dieser Fragestellung beigemessen werden. Eine weitere Streitfrage soll ebenfalls im Rahmen dieser Untersuchung behandelt werden, nämlich das Problem der "multipolaren" Zellen der Spinalganglien. Sicherlich existieren in geringer Zahl in sensiblen Ganglien vegetative Elemente, so im Ganglion nodosum vagi. Die Literatur hierzu findet sich bei SCHARF (1957). Wenn aber KISS (1932) generell allen irregulär geformten Nervenzellen in sensiblen Ganglien Zugehörigkeit zum vegetativen Nervensystem zuerkennt und diese Elemente als echte multipolare deklariert, so scheint die Kritik anderer Autoren, wie FISHER und RANSON (1934), zu Recht zu bestehen. BLAIR, BACSICH und WYBURN (1936) bezeichnen diese unregelmäßig gestalteten Zellen exakter als "multanguläre". Die Frage nach

der Realität solcher Zellen könnte ebenfalls mit topochemischen Methoden angegangen werden.

Die angewandten Methoden sind samt und sonders Farbreaktionen, d. h. der positive Nachweis einer fraglichen Substanz wird durch das Auftreten einer Färbung geführt. Die Farbtintensität gestattet außerdem gewisse quantitative Aussagen. Hierauf wird noch später zurückgekommen.

B) LITERATUR

In seinen Untersuchungen über die cervicalen Spinalganglien der weißen Ratte stellte HATAI (1901, 1902, 1903) die Existenz verschiedener Zellgrößenklassen heraus. Er grenzte drei Typengruppen gegeneinander ab:

Gruppe A: Große "helle" Zellen

Gruppe B: Kleine "dunkle" Zellen und

Gruppe C: Mitttelgroße Übergangsformen.

Er bemerkte, daß die Zellkörper der Gruppen B und C ein wenig mehr schrumpfen als die der größeren Zellen. Dies ist nach HATAI kein Zeichen für pathologische Veränderungen oder größere Artefakneigung, sondern eher ein Hinweis darauf, daß es sich bei Gruppe B und C um normale, noch unreife, wachsende Zellen handele. Wörtlich begründet HATAI seine Auffassung mit folgendem Satz: "It is already known that the animal body contains when young comparatively a greater amount of water than the mature animals."

Die größte Variationsbreite der Zellgrößen innerhalb eines Ganglions interpretierte der Autor als Beweis für das andauernde Zellwachstum. Nach der Auffassung von HATAI entspricht die große Zelle vom Typ A dem Status völliger Reife, dagegen die kleine Zelle vom Typ B noch unreifer Entwicklungshöhe. Der Zwischentyp C repräsentiert sowohl reife als unreife Elemente. Neben dieser Unterscheidung dreier Zelltypen betonte HATAI, daß die Zellen ihrer inneren Struktur nach regelrecht abgestuft seien.

In späteren Untersuchungen über Spinalganglien zählte HATAI die markhaltigen Fasern der hinteren Spinalnervenzurden weißer Ratten aus; auch im Rahmen dieser Untersuchungen stellte der Autor mindestens zwei Spinalganglienzelltypen heraus: große und kleine. Die großen Zellen sollten nunmehr die funktio-

nierende Form sein, während die kleinen noch als in Entwicklung befindlich aufgefaßt werden. Zählungen der Spinalganglienzellen ergaben aber mit Sicherheit keinerlei Veränderungen der Zahlenrelation zwischen großen und kleinen Zellen. HATAI bezweifelt nicht, daß die totale Zahl der Spinalganglienzellen während des ganzen Lebens konstant bleibe. Andernfalls müsse man nämlich erwarten, daß die Zellen in den Ganglien erwachsener Tiere zahlreicher sind als in denen junger, und daß die jungen Tiere mehr kleine als große Zellen in ihren Ganglien aufweisen.

HATAI wandte sich gegen die alte Hypothese von BÜHLER (1898), nach welcher die großen Zellen laufend zu Grunde gehen sollen, um durch kleine heranwachsende Zellen ersetzt zu werden. Als Begründung für seinen Widerspruch gegen BÜHLER (1898) sagte HATAI: "As the animal gets older the spinal ganglion cells should decrease in number." HATAI's Überzeugung beruhte selbstverständlich gleichzeitig auf der Voraussetzung, daß sich die Ganglienzelle bei der Ratte nicht mehr nach der Geburt teilen kann.

RANSON (1914) beobachtete, daß die Form der Spinalganglienzelle nicht absolut fixiert und stabilisiert ist. Insbesondere sicherte der Autor die Fähigkeit der sensiblen Nervenzelle, unter pathologischen Bedingungen und nach einem Trauma ihre äußere Form ändern zu können. Derartige Formwandlungen können in erstaunlich kurzer Zeit ablaufen, sie sind nicht immer als permanenter Gestaltswechsel zu erklären. Durch Transplantation des zweiten spinalen Halsganglions bei einer Rattengruppe in den Cortex cerebri einer anderen Gruppe von weißen Ratten wurde eine klar umrissene Änderung der Zellform induziert. Als RANSON nach zwei bis drei Tagen einige seiner Wirtstiere tötete, fand er bereits die nichtdegenerierten Zellen des Transplantats in multipolare Form übergeführt. Die anderen Tiere tötete er nach 13 bis 18 Tagen, wobei sich erstaunlicherweise zeigte, daß die Transplantatzellen wieder normale Gestalt zurückgewonnen hatten. Der Autor schloß hieraus mit Recht, daß die Spinalganglienzelle keine definierte Form besitzt, sondern Formveränderungen vom Status der einfachen pseudounipolaren Zelle in komplizierteste multipolare Gebilde durchlaufen kann. Diese multipolaren Elemente lassen Fortsätze vom Zellkörper und Axon aussprossen, in der gleichen Weise wie dies auch in "normalen" Ganglien im Gefolge kräftiger Stimulation beobachtet werden konnte.

KISS (1932) untersuchte mit der sogenannten "prolongierten Osmiummethode" Hirnnerven- und Spinalganglien bei Menschen und Säugetieren. Er unterschied

zwei differente Zelltypen:

Typ I: Große, runde, helle Zellen und auch kleine, runde, helle Zellen

Typ II: Dunkle multipolare Zellen

Typ I soll nach KISS generell unipolar sein; das Protoplasma dieser Zellen ist stets hell und sehr fein granuliert, der Durchmesser kann in weiten Grenzen variieren. Die Kerne dieses Zelltyps bleiben stets ungefärbt. Dagegen sind die multipolaren Perikarya von Typ II stets intensiv ("dunkel") färbbar, die protoplasmatischen Granula stets größer als bei Typ I. Nach KISS soll die kleine Form von Typ I stets mit Sicherheit von Typ II abgrenzbar sein. Über die menschlichen Spinalganglien führt KISS aus: "I found a great majority of Type I and scattered amongst the large pale cells single ones of type II. About the same proportion is found in the Gasserian ganglion of man and mammals." Weiterhin stellte KISS fest, daß Zellen vom Typ I (kleine, runde blasse) und Zellen vom Typ II (dunkel, multipolar) auch in den Grenzstrangganglien enthalten sind. Außerdem sind wenige Zellen des Typs II in Spinalganglien nachzuweisen. KISS behauptet, die dunklen, multipolaren Zellen seien efferent und gehörten dem vegetativen System an, die großen runden hellen Zellen seien somato-sensibel, die kleinen runden hellen dagegen viscero-sensibel,

KISS führt weiterhin aus, daß er bei vergleichenden Untersuchungen oft sensible und sympathische Nervenanteile im gleichen Ganglion gefunden habe. Er erklärte die Fortsätze an den dunklen Zellen, die zwischen zwei Eindellungen der Zelloberfläche ihren Ausgang nehmen, als dünne Dendriten. FISHER und RANSON (1934) korrigieren nach eigenen Untersuchungen KISS' Befunde über die Multipolarität der Spinalganglienzelle. Prinzipiell bestätigen sie, daß nach Anwendung der prolongierten OsO_4 -Methode solche Elemente nachweisbar seien, wenngleich sie eine andere Dehydrationsmethode und ein anderes Einbettungsverfahren als KISS benutzen. FISHER und RANSON bemerkten rund um das Perikaryon der dunklen Zelle Einkerbungen ("indentations"), die höchstwahrscheinlich die Lage der Satellitenzellen markieren. FISHER und RANSON fanden, daß die Zahl der dunklen Zellen - meist mit diesen Einkerbungen versehen - in den Spinalganglien der verschiedenen Species variiert. Nach ihrer Meinung können Traumen die Zahl dieser eigentümlichen Zellvariante erhöhen, wobei unter Umständen eine Abhängigkeit zwischen der Heftigkeit und Ausdehnung der Verletzung und der quantitativen Zellzahlenverschiebung besteht.

Gegen KISS machen beide Autoren geltend, daß in den Sympathicusganglien nicht die Zellen vom Typ II als spezifisch gelten können. Den schärfsten Einwand gegen die Hypothese von KISS gründen die beiden englischen Autoren jedoch auf die Tatsache, daß es ihnen gelang, die Zahl der dunklen Zellen durch Behandlung der Ganglien mit hypertonen Salzlösungen zu erhöhen. Weiterhin zeigte sich die Zunahme dunkler Zellen als Folge postmortalen Zeretzungserscheinungen. Das spezielle Verfahren von KISS zur Darstellung dieser Methode, nämlich prolongierte Osmierung nach Formolfixation, sei besonders dazu angetan, die dunkle Zellvariante als Artefakt zu produzieren. Ein Teil der Zellen schwärzt sich dabei intensiv, gleichgültig, ob man spinale oder sympathische Ganglien untersuche, die überwiegende Mehrheit der Elemente aber bleibe mit verschiedenen Färbungsintensitäten hell und daher auch trennbar. Es schien den Autoren eine direkte Abhängigkeit zwischen der Farbtiefe und dem Schrumpfungsgrad der jeweiligen Zelle zu bestehen, weshalb sie über die Multipolarität der dunklen Spinalganglienzelle wie folgt zusammenfassen: "It seems probable that the multipolarity of these spinal ganglion cells is an artefact produced by distortion of the cell contours through shrinkage".

BLAIR, BACSICH und DAVIES (1936) fixierten Spinalganglien von Katzen in 10%iger Formaldehydlösung bzw. in Neutralformol und unterschieden nach dieser Vorbehandlung drei unterschiedliche Nervenzelltypen.

- Typ I: Große Zellen, rund oder leicht oval mit Durchmessern zwischen 75 und 100 μ , im allgemeinen überwiegt ihre Zahl die des Typs II. Das Perikaryon füllt gewöhnlich die gesamte Satellitenkapsel aus, so daß kein natürlicher Spaltraum zwischen den beiden ektodermalen Anteilen existiert. Andere Satelliten als die der Kapsel wurden nicht beobachtet, also insbesondere keine sog. "subkapsulären Zellen".
- Typ II: Kleine Zellen, meist von runder Gestalt, deren Durchmesser im allgemeinen etwas mehr als die Hälfte des Diameters der großen Elemente beträgt. Dieser Typ ist gewöhnlich weniger zahlreich als die Zellen vom Typ I. Wie oben ausgeführt, fehlen auch bei Typ II perizellulärer Spalt und subkapsuläre Zellen.
- Typ III: Im allgemeinen verhalten sich diese Elemente der Größe nach wie Zwischenstufen zwischen Typ I und II, gewöhnlich weisen sie "multipolare" Form auf und zeigen einen Schrumpfungsspalt

zwischen Ektoplasma und Satelliten. Die Oberfläche dieser Elemente zeigt zahlreiche Einkerbungen, die zum größten Teile mit Satellitenzellen ausgefüllt sind. Der Golgi-Apparat ist gewöhnlich bei diesem Typ gröber angeordnet als bei I und II.

Die drei Autoren fanden wenige runde helle Zellen von wirklich multipolarer Gestalt, sie gehörten entweder der Größenklasse I oder II an. Dagegen bezeichnen sie die von früheren Untersuchern als Multipolare aufgefaßten dunklen Zellen als "multanguläre" Zellen. Diese Elemente sind nicht sehr zahlreich in einem Ganglion vertreten; außerdem soll mit diesem neugeprägten Namen zum Ausdruck gebracht werden, daß die scheinbare Multipolarität der färbehistologisch dargestellten Zellen im Silberimprägnationspräparat nicht verifiziert werden kann. Allgemein kommen die Autoren überein, daß die Multangularität eines Zellkörpers nicht notwendigerweise auf Multipolarität hinweisen muß. Die überwiegende Mehrheit aller hellen und dunklen Zellen der Spinalganglien besitzt eindeutig nur einen Fortsatz, der sich nach kurzer Verlaufsstrecke teilt; mit anderen Worten: Die Zellen sind pseudounipolar.

BACSICH und WYBURN (1953) bemerkten, daß formaldehydfixierte Schnitte "sensibilisiert" sind und bei anschließender Alkoholbehandlung schrumpfen, in Ganglienpräparaten am stärksten die dunklen Zellen. Die inzwischen mehrfach erwähnten "multipolaren" Zellen finden sich nach Meinung dieser Autoren nur in solchen Präparaten, die in Formol fixiert worden waren; irgendwelche sicheren Hinweise auf multipolare Zellfortsätze wurden jedoch vermißt. Aus diesen Gründen verwenden BACSICH und WYBURN weiterhin den Namen "multangular cells". Nach Gefriertrocknung wird das Gewebe in gewisser Hinsicht - mit seinem natürlichen Zustand verglichen - besser erhalten, die beiden Autoren fanden in solchen Präparaten keine multangulären Zellen und schlossen daraus, daß sie während des Lebens nicht in dieser Form vorhanden sind. Da diese Zellen nach Fixation mit anderen chemischen Fixationsmitteln nicht gefunden wurden, sondern einzig und allein nach Formaldehydbehandlung, machen die beiden englischen Autoren das Formol als auslösenden Faktor für die Produktion dunkler, multangulärer Zellen verantwortlich. Jedoch ist Formaldehyd nicht allein in der Lage, diese - wie die Autoren meinen - Artefakte zu produzieren, sondern BACSICH und WYBURN führen aus: "A combination of specific factors. Formalin fixation in combination with any one of several procedures, such as alcoholic dehydration or slow freezing." Es liegt offenbar nahe, daß eine bestimmte Teilgruppe von Spinalganglienzellen durch Formaldehyd dahingehend sensibilisiert wird, daß sie auf nachfolgende Einwirkung

sekundärer Faktoren mit Schrumpfung reagiert. Diese Schrumpfung ist bezeichnend für die charakteristische multanguläre Form und die typische Konzentration des NISSL-Materials, das im wesentlichen den dunklen Farbton dieser Elemente bedingt (BACSICH und WYBURN 1953).

CLARK (1926) untersuchte in lebensfrischem Zustande Ganglienzellen aller Hirnnerven (ausgenommen N. I und II) der Spinalganglien, des Nucleus mesencephalicus n. trigemini und einzelner Grenzstrangganglien von Hunden. Der Autor stellte eine ganze Typenreihe nach dem NISSL-Bild auf und vertrat die Meinung, daß die Zellen eines Typs durch funktionelle Aktivität in ihrem Erscheinungsbilde verändert werden könnten. Die einzelnen Typen treten in den verschiedenen Ganglien in konstanten Verhältnissen auf, so daß es möglich ist, regelrechte Zelltypenverteilungspläne aufzustellen, die weitgehende funktionelle Rückschlüsse auf die einzelnen Ganglien zulassen. Im einzelnen unterscheidet CLARK folgende Typen:

- Typ A: Große helle Zellen von WARRINGTON und GRIFFITH (1904), stets von runder Gestalt und schütter feingranuliert, im allgemeinen ist die Granulation gleichmäßig über das helle Cytoplasma verteilt.
- Typ B: Gröber granulierte Zellen mit irregulärer oder konzentrischer Anordnung der Granula im ebenfalls hellen Cytoplasma.
- Typ C: Kleine runde Zellen mit einem peripheren Ring feiner oder mittelgroßer Tigroidpartikel, das Cytoplasma färbt sich zart oder bleibt ganz hell.
- Typ D: Kleine Zellen mit sehr feiner staubförmiger Granulation, die in diffusen breiten Bändern im Cytoplasma angeordnet sind. Einige mögen im Grundcytoplasma so feine NISSL-Substanz enthalten, daß sie als diffus gefärbt erscheinen.
- Typ E: Dieser Typ ist nicht so eindeutig abzugrenzen. Die Zellen sind klein oder mittelgroß und besitzen unterschiedliche Granulation. Einige von ihnen weisen besonders grobe Granula auf, gröber als in anderen Zellen.
- Typ F: Mittelgroße bis große Zellen mit mittelgroßen Granula, die über das Cytoplasma verstreut liegen; das Cytoplasma färbt sich wie die

Granula, jedoch sind diese nicht scharf begrenzt. Zellen dieses Typs zeigen sich oft in Gruppen von variabler Größe in der gleichen Endoneuralscheide.

Typ G: Dieser Typ ist auf das Ganglion vestibuli beschränkt. Es handelt sich um auffallend kleine, bipolare Zellen von gewöhnlich ovaler oder runder Gestalt. Der Nucleus ist auffallend groß im Verhältnis zu dem kleinen Perikaryon. Das Tigroid setzt sich aus großen Granula zusammen und ist im ganzen, hellen Cytoplasma verstreut, wobei sich jedoch eine Konzentration in der unmittelbaren Kernnähe darbietet.

CLARK stellte diese Typen, wie aus der Aufstellung hervorgeht, nach dem NISSL-Bild zusammen. Er nahm an, daß diese Zelltypen in einigen Fällen auch an spezielle Funktionen gebunden seien, ließ jedoch offen, ob dabei noch Faktoren eine Rolle spielen, die wir vorläufig nicht überblicken können. Er hielt es auch für möglich, daß Neurone mit unähnlicher Funktion unter dem gleichen NISSL-Bild erscheinen könnten.

CHINN (1938) zeigte durch polarisationsoptische Untersuchungen auf, daß Nervenfasern und Nervenzellen im Feinbau weitestgehend ähnlich strukturiert sind. Diese Ähnlichkeit gilt sowohl für die innere Plasmastruktur als auch für die umgebenden Hüllstrukturen. Achsenzylinder und frische Nervenzellen zeigen mit großer Sicherheit, daß orientierte Proteinmicellen darin enthalten sind. Die Teilchen sind anisodiametrisch und ihr Orientierungsgrad zeigt an, daß sich aus ihnen nach Fixation und Färbung die Neurofibrillen bilden. Angenommen, dies sei streng genommen nur im Achsenzylinder so, ist doch der Gangunterschied des Neurocytoplasmas durch eine relativ kleine, aber gut orientierte Eiweißfraktion bedingt.

Es wird aufgezeigt, daß diese orientierte Struktur dem granulären Untergrund des Cytoplasmas von Zellen und Dendriten überlagert ist.

CHINN kam schließlich bei ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die motorischen unipolaren Ganglienzellen der Crustaceen und die sensiblen pseudounipolaren Nervenzellen des Frosches in gleicher Weise von einer dünnen Lipoidmembran eingehüllt werden. Diese Zellscheide ist genau so aufgebaut wie die Hülle des Achsenzylinders bei Wirbellosen. Die Markscheide der Wirbeltiere ist nichts als eine Weiterdifferenzierung davon. Diese "axon sheath"

bekleidet parallel zum Neurolemma mit Ausnahme RANVIERScher Schnürringe das gesamte Neuron. Die motorischen Vorderhornzellen des Frosches zeigten dagegen keine derartigen Membranen, aber die Zellgrenzen haben optische Eigenschaften ähnlich dem allen tierischen Zellen eigenen Plasmalemma. Das Cytoplasma zeigt deutlich die Anwesenheit von Eiweißpartikeln, deren lange Achse tangential ausgerichtet ist. CHINN fand außerdem die Kernmembran aus Proteinen von Folientextur zusammengesetzt, ähnlich der Zellmembran. Diese Folien liegen parallel zur Membranfläche angeordnet.

HATAI (1901, 1902, 1903) verglich die Ganglien junger und alter weißer Ratten miteinander. Die untersuchten Ganglien waren C_6 , Th_4 und L_2 . Er fand auf Querschnitten der dorsalen Wurzel nach Osmierung zum Zeitpunkt der Geburt zwei Arten von Nervenfasern. Die eine zeigt helle Außenkonturen, färbt sich aber sonst tiefschwarz. Dieser Fasertyp wird von einer Markscheide umgeben, die außerordentlich reich an lipoiden Substanzen ist, es handelt sich dabei um die reife Faser. Der andere Typ zeigt ebenfalls helle Außenkontur, färbt sich aber nur schwach oder bleibt meist ungeschwärzt. Diese Fasern werden von einer Markscheide umgeben, die, da sie noch nicht gereift ist, nur wenig Lipoide enthält. HATAI schließt, daß es chemische Unterschiede, nicht Kaliberunterschiede seien, an denen sich reife und unreife Fasern unterscheiden lassen. Weiterhin fand er, daß die Halsspinalganglien die größten Zellzahlen aufweisen, ihnen folgen die lumbalen, während die thorakalen mit der niedrigsten Zellhäufigkeit am Ende stehen. Bedingt durch das dauernde Wachstum der kleinen Zellen kommt es schließlich beim erwachsenen Tier nach Meinung des Autors zu einem dauernden Ersatz der großen Zellen durch kleine. Keinesfalls konnte er aber Zeichen für eine postnatale Zellteilung finden. Er bemerkte, daß die reifen Fasern bei der erwachsenen Ratte zu Lasten unreifer an Zahl zugenommen haben, was besonders in den thorakalen Radices dorsales deutlich, in Cervikal- und Lumbal-Segmenten weniger ausgeprägt war.

Bei juvenilen Ratten von 10,3 g fand der Autor in den thorakalen Segmenten die höchsten Anteile an unreifen Nervenfasern, es folgten Lumbal- und zuletzt Cervikal-Wurzeln mit den niedrigsten Werten. Diese Reihenfolge war auch bei der reifen Ratte die gleiche, im Thoraxbereich finden sich auch dann noch die höchsten, im Cervikalabschnitt die niedrigsten Anteile. Wörtlich stellte HATAI fest: "This indicated a greater numerical completeness of the cervical nerve in both young and adult. The lumbar nerve follows the cervical, the thoracic shows the least numerical completeness both in the

young and mature." Durch quantitative Auswertung kam HATAI ferner zu dem Ergebnis, daß in jedem Spinalganglion durchschnittlich mindestens zwei Spinalganglienzellen auf eine korrespondierende Hinterwurzelfaser kommen.

BARRIS (1934) untersuchte die schon früher häufig gestellte Frage nach den atypischen Neuronen der sensiblen Ganglien. Bei der Katze kam er zu der Überzeugung, daß der Anteil solcher Elemente von Tier zu Tier und Ganglion zu Ganglion schwankt, aber doch mindestens immer einige wenige davon gefunden werden können. Die fraglichen Zellen weichen erheblich von den unipolaren Spinalganglienzellen ab, der häufigste Typ bei der Katze ist durch akzessorische Ausläufer vom Perikaryon oder Axon ausgezeichnet. An den Enden dieser dendritenähnlichen Fortsätze finden sich "end bulbs", in der Literatur allerdings meist mit dem spanischen Terminus als "bolas" bezeichnet. Der nächsthäufigste Typ wird von perizellulären oder periglomerulären Faserknäueln umgeben, dagegen sind die anderen atypischen Formen nach BARRIS bei der Katze selten.

Eine neuere Untersuchung des Problems der "dunklen" und "hellen" Spinalganglienzellen lieferten HOSSACK und WYBURN (1954) mit dem Elektronenmikroskop. Bei der erwachsenen Ratte fanden die Autoren zwei eindeutig unterscheidbare Typen, "helle" und "dunkle", die aber nicht auf die Größe beziehbar waren, jedoch in ihrem cytoplasmatischen Aufbau erhebliche Differenzen aufwiesen.

Typ A: Das Cytoplasma enthält irreguläre Massen eines elektronendichten Materials, das nach Größe und Anordnung unregelmäßig verteilt erscheint. Diese Massen weisen eine granuläre Textur auf und werden von den Autoren als Aggregate von NISSL-Substanz aufgefaßt. Mitochondrien konnten nachgewiesen werden. Besonders auffallend ist das Fehlen irgendwelcher Unterschiede in der Elektronendichte zwischen Karyoplasma und Grundcytoplasma.

Typ B: Infolge niedriger Elektronendichte des Karyoplasmas erscheinen die Kerne im Elektronenmikrophotogramm auffällig hell. Das Cytoplasma ist dichter gepackt und homogen, so daß es schwierig ist, cytoplasmatische Elementarstrukturen gegeneinander abzugrenzen. Insbesondere sind Tigroidschollen nicht von der Größe und Dichtigkeit wie bei Typ A nachweisbar, sondern fast homogen verteilt und tauchen infolgedessen im cytoplasmatischen Untergrund unter.

Gelegentlich wurde ein dritter Zelltyp gefunden, der von den übrigen, gewöhnlichen Spinalganglienzellen absticht, da er klein, ausgesprochen dunkel im Cytoplasma und unregelmäßig in der Form strukturiert ist. Nach Auffassung dieser Autoren könnte es sich bei diesen Elementen um die "multangulären" Zellen der Lichtmikroskopie handeln. Anzeichen für eine neurofibrilläre Struktur im Cytoplasma waren nicht zu beobachten, so daß HOSSACK und WYBURN die vielfältigen in der Literatur beschriebenen Fibrillenstrukturen für Artefakte halten.

Der Kern der Spinalganglienzellen weist eine homogene Grundsubstanz auf, sowie auch im Elektronenmikroskop Nucleolus und Kernmembran. Das Karyoplasma weist geringere Elektronendichte auf als das Cytoplasma der Zelle vom Typ B, dagegen etwa gleiche Dichte wie das Cytoplasma von Typ A. Wenn die britischen Autoren gelegentlich zwei Nucleoli in einem Kern fanden, sprachen sie das zusätzliche Kernkörperchen als Reserveproteinstruktur an. Heterochromatin ist innerhalb der gesamten Kernsubstanz in Gestalt dunkler, dichter Massen von schwankender Größe und Form verstreut. Die Kernmembran fanden die Autoren in einigen Fällen teilweise gezähnt, in einigen Ultradünnschnitten schien sich eine Doppelmembran nachweisen zu lassen. In der angezogenen Arbeit konnten HOSSACK und WYBURN zunächst nicht die Anwesenheit konzentrischer Proteinlamellen bestätigen, wie sie CHINN (1938) beschrieben hatte. Anzeichen für eine reguläre Anordnung von Membranporen wurden nicht aufgefunden. Die Existenz einer Zellmembran konnten die Autoren elektronenmikroskopisch bestätigen, im Ektoplasma finden sich außerdem systemhaft angeordnete feinste Proteinfibrillen, die zur stabilen Trennung von Cytoplasma und Satellitenzellen beitragen. Manchmal scheint es so, als hätten diese Fibrillen eine gewisse Ähnlichkeit mit den Trophospongien von HOLMGREN. Die Satellitenzellen stehen in geschlossenem Kontakt mit der Ganglienzelle, Anzeichen für ein zwischen beide eingeschaltetes perizelluläres Nervennetzwerk fanden sich nicht. Die Satelliten ihrerseits schließen sich zu einer kompletten Kapsel für jede Ganglienzelle zusammen. Da die Autoren - wenn auch nur selten - Zwillingzellen fanden, glaubten sie, daß die Ganglienzellen noch eine gewisse Teilungspotenz aufweisen können. Weiterhin glaubten die beiden Autoren, die ausgesprochene natürliche intime Beziehung zwischen Kapselzellen und Perikaryon weise eine funktionelle Wechselbeziehung nach. Die Satelliten dürften eine zunächst nicht näher bekannte nutritive Funktion ausüben.

DAWSON, HOSSACK und WYBURN (1955) stellten wiederum intensive Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop an, die einige weitere Sicherheit über die Struktur der "hellen" und "dunklen" Spinalganglienzelle erbrachten. Die Ganglienzelle ist nach diesen Befunden von einer feinen Bindegewebshülle umgeben, die ihrerseits die Satellitenzellen umgibt. Der Achsenzylinder formt ein sogenanntes perizelluläres Glomerulum. Das Axoplasma ist nach seiner Elektronenabsorption dem Neurocytoplasma ähnlich, unterscheidet sich aber streng vom Karyoplasma. Auf diese Weise kommen die Autoren zu der Überzeugung einer übereinstimmenden Grundorganisation von Spinalganglienzelle und Nervenfaser, was ältere Autoren bereits angenommen hatten und auch von SCHARF (1951) gezeigt werden konnte. Das Neurocytoplasma ist von einer lipoiden Hülle umgeben, die schließlich von der zelligen Scheide nach außen begrenzt wird. Die NISSL-Substanz im Endoplasma tritt nach Form, Größe und Anordnung in Variationen auf, die es gestatten, "helle" und "dunkle" Zellen zu unterscheiden. Das Tigroid erscheint in umschriebenen Aggregaten aus elektronendichtem Material, welches durch die ganze Zelle mit Ausnahme des Ektoplasmas verstreut ist, auch in der Perinuclearregion. In der "dunklen" Zelle ist die NISSL-Substanz mehr diffus, so daß die ganze Zelle elektronendichter und gleichzeitig licht- und elektronenmikroskopisch "dunkel" erscheint. Die Grundstrukturkomponente der chromophilen Masse beider Zelltypen zeigt einen Feinbau aus granulären winzigen Partikeln, die letzten Endes die Elektronen absorbieren. Neurofibrillen konnten von den Autoren in den sensiblen Nervenzellen nicht nachgewiesen werden. Dagegen zeigt das Basalplasma ein protoplasmatisches Grundnetz, das aus feinen Filamenten aufgebaut wird. Es handelt sich höchstwahrscheinlich um ein Protein, das ein diskontinuierliches, perlenähnliches Muster zeigt. Mitochondrien sind die elektronendichtesten Strukturen im Neurocytoplasma, sie weisen doppelte Grenzmembranen auf. Die Kernmembran ist vom Cytoplasma scharf zu trennen, sie zeigt scheibchenförmige Verdickungen von etwa 850 Å. Hierbei könnte es sich um solide Strukturen handeln. Die Kernmembran ist nicht in allen Zellen gleich dick, sie scheint aber allenthalben aus zwei Komponenten zu bestehen, nämlich einmal aus den Knoten und zum anderen aus einer kontinuierlichen Membran. Die Anwesenheit dieser Knötchen soll nach Meinung der Autoren ein deutlicher Beweis dafür sein, daß die Struktur der Membran nicht einheitlich aufgebaut ist: Die Kernmembran ist keineswegs einfach, sondern weist differenzierte regionale Unterschiede auf. DAWSON, HOSSACK und WYBURN meinen, die Membran müsse sowohl als Phasengrenze den Durchtritt kleiner Molekülen, als auch riesiger Protein- und Nucleoproteid-Moleküle ermöglichen. Sie kann also nicht nur eine einfache osmotische Barriere

sein, sondern muß Möglichkeiten zur Aufrechterhaltung eines Selektionsmechanismus bieten. Ohne Zweifel ist die Kernmembran eine sehr labile Struktur. Die Autoren halten nun die erwähnten Knötchen für die Regulationseinheiten einer selektiven Membranpermeabilität. Die Knoten sollen aus Lipoproteinen bestehen, etwa 100 Å dick sein und die Passage großer Moleküle erlauben.

Beim Ochsen, der Ratte und dem Menschen wies SCHARF (1951) lichtmikroskopisch sichtbare Hüllmembranen nach, die mit OsO_4 und kolloidalem Sudanorange nach ROMEIS nur an den kleinen "dunklen" Zellen im Ganglion semilunare, nodosum und jugulare darstellbar waren, selbstverständlich auch in den Spinalganglien. SCHARF fand den außerordentlichen Reichtum dieser kleinen Zellen an Lipiden, was immerhin eine Trennung von "hellen" und "dunklen" Zellen nach dem histochemischen Lipoidpräparat genauso ermöglicht wie nach Anwendung der NISSL-Methode. Es wurde weiterhin herausgefunden, daß diese kleinen Zellen bei Anwendung der Färbung nach KAPLAN die blaue Farbe des Anthracenblaus annehmen, die großen dagegen nur die Farbe des Säurefuchsin. Möglicherweise beruht dieser färberische Unterschied auf dem Vorhandensein eines spezifischen Lipoproteins im Endoplasma der "dunklen" Nervenzelle, das dann mit dem sogenannten Myeloaxostroma des Achsenzyllinders der markhaltigen Nervenfasern identisch wäre. Die bipolaren Zellen im Nervus statoacusticus, die größtenteils anstelle einer Zellmembran eine Markscheide besitzen, verhalten sich in dieser Hinsicht wie markhaltige Nervenfasern und kleine "dunkle" sensible Perikarya. Die Substanz, welche die Färbung als Substrat bedingt, ist aber vorläufig nicht exakt zu definieren.

IRAZOQUE und DEMAY (1951) untersuchten die alkalische Phosphatase im Nervensystem von Wirbellosen und Wirbeltieren. Im Cerebralganglion von *Helix pomatia* zeigten sich dunkle und helle Zellen, besonders aber in den sensiblen Ganglien des Rindes. Die kleineren Zellen waren infolge ihrer hohen Fermentaktivität auch hier wieder die "dunklen", die großen die "hellen" fermentarmen. Genauer gesagt färbten sich die großen Zellen nur braun, einzig in ihrer peripheren Plasmazone intensiver. Die kleinen Zellen dagegen wiesen Fermente in hoher Konzentration überall im Protoplasma auf. Die Satelliten an Zelle und Glomerulum reagieren ebenfalls intensiv. Es sei erwähnt, daß die Endothelien der Hirnkapillaren im Vergleich mit denen anderer Organe sehr reich an alkalischer Phosphatase waren, die stärksten Reaktionen gaben aber Nervenfasern und Kapillarendothelien der Substantia gelatinosa. Bindegewebe reagierte nirgends, die Achsenzyllinder sehr schwach. Die Autoren schlossen, daß die Reaktion an solchen Orten am stärksten ausfällt, wo intra-

vital der Stoffwechsel am höchsten ist. Nach Meinung von IRAZOQUE und DEMAY enthält das Neurocytoplasma die alkalische Phosphatase in hohem Maße, nicht aber die Ausläufer. Trotzdem fanden sie eine kräftige Reaktion der peripheren Nerven, die aber durch die kräftige Reaktion der SCHWANNschen Scheiden bedingt ist. BIELSCHOWSKY (1935) zeigte an Spinalganglienzellen, daß die Oxydasereaktion an das Auftreten blau gefärbter Granula gebunden ist, die nur im Cytoplasma vorkommen, während Kern und Nucleolus farblos bleiben. MARINESCO (1924) fand ebenfalls die sensiblen Nervenzellen mit Oxydasegranula angefüllt, die sich im Cytoplasma und evtl. in den Dendriten (besser Pseudodendriten!), nicht aber im Ursprungskegel des Achsenzylinders nachweisen lassen. Die Achsenzylinder enthalten reichlich Oxydasen, aber erst auf der markhaltigen Wegstrecke. Bei Erwachsenen bleiben Gliazellen und das Gliareticulum ungefärbt. Der Autor nimmt an, daß sich Oxydasen besonders an solchen Stellen in hoher Konzentration finden, wo stärkere nervöse Energien gebraucht werden.

BURKHARDT (1953) stellte bei Mensch, Rind und Hund Phosphatasenreaktionen an, aber nur als Ersatz für die "launischen" Silberimprägnationsmethoden. Saure Phosphatase fand sich auf die Neurone beschränkt, die Reaktion fiel stets sehr kräftig aus. Alkalische Phosphatase wies die Autorin dagegen auch in den Amphicyten und im Bindegewebe nach, weshalb die Neurone etwas weniger deutlich hervortreten. Außerdem scheint die Phosphataseaktivität in den sensiblen Zellen auch etwas schwächer auszufallen. Multipolare Zellen konnte BURKHARDT nicht finden, sondern nur pseudounipolare und gefensterte. Die gefensterten Zellen fand die Autorin in typischer Weise beim Rind, bei Menschen und Hunden weniger oft.

C) MATERIAL und METHODIK

Um an wirklich frischem Material arbeiten zu können, wurde bei frisch geschlachteten Rindern auf dem Schlachthof Mainz das Ganglion semilunare nach Aufsägen des Schädels herauspräpariert und der jeweils geplanten histochemischen Methode entsprechend fixiert. Zwischen Tötung und Fixierung lagen im allgemeinen etwa 20 Minuten.

Die folgenden Methoden wurden angewandt:

1. Benzidin-Reaktion für Peroxydasen nach DE ROBERTIS und GRASSO (1946), siehe PEARSE (1954), S. 471.
2. Succinodehydrasenachweis nach NEUMANN (1952).
3. Gewebs-Nadi-Reaktion nach GRÄFF (1916), siehe PEARSE (1954), S. 295 ff. und ROMEIS (1948).
4. Glykogen-Nachweis nach BAUER (1933), siehe ROMEIS (1948).
5. Perjodsäure-Leukofuchsin-Reaktion nach HOTCHKISS (1948), siehe PEARSE (1954), S. 431.
6. Calcium-Cobalt-Methode für alkalische Phosphatase nach GOMORI (1946), siehe PEARSE (1954), S. 456.
7. Bleiphosphat-Methode für saure Phosphatase nach GOMORI (1950), siehe PEARSE (1954), S. 460.

Alle Methoden wurden nach den Originalverfahren angewandt, die von den Autoren vorgeschriebenen Kontrollen wurden durchgeführt.

D) BEFUNDE

- 1.) Peroxydasen: Frische Gefrierschnitte aus dem Ganglion semilunare des Rindes wurden nach Formolfixation zu diesen Bestimmungen herangezogen. Der positive Enzymnachweis ergibt sich aus einer blauen Farbstofffällung. Hohe Aktivität zeigten die großen "hellen" Zellen, weniger die kleinen "dunklen", die höchste Aktivität war den irregulären Zellen zugeordnet (Abb. 1). In einigen Fällen zeigte sich Ferment-Dispersion über das gesamte Cytoplasma. Dichte, dunkle Placken zeigten in einigen Zellen Stellen besonders hoher Enzymaktivität auf. In anderen Zellen war die Aktivität dagegen recht begrenzt. Das Cytoplasma einiger großer Zellen und einiger weniger kleinerer Elemente zeigt eigentümliche Ausläufer, die manchmal an Pseudopodien von Amöben erinnerten (Abb. 2). In seltensten Fällen handelte es sich dabei um multanguläre Zellen, meistens waren es vielmehr echte Ausläufer, allerdings nicht echte Dendriten.

Mithin können diese Elemente als pseudomultipolare Zellen (SCHARF 1957) mit Pseudodendriten (RAMÓN Y CAJAL 1935) angesehen werden. In einzelnen Zellkernen fanden sich ebenfalls Granula, so daß an eine schwache endonucleäre Aktivität gedacht werden kann. Eine klare fermentfreie Zone in Kernumgebung ist nicht nachzuweisen. Die Satellitenzellen zeigen eine leichte Verminderung der Aktivität gegenüber dem Neuroplasma. Verschiedene Abweichungen in der Anordnung der Peroxydaseaktivität beider einzelnen Zelltypen sind deutlich, jedoch scheinen die großen Zellen die deutlichste Fermentanhäufung zu besitzen. Die Nervenfasern geben nur eine schwache Reaktion (Abb. 3). Schrumpfung des Gewebes bei Anwendung der Methode nach DE ROBERTIS und GRASSO ist nur außerordentlich gering.

- 2.) Oxydasen (Geweb's-Nadi-Reaktion): Eigentlich weist die Reaktion nach GRÄFF nicht Oxydasen im allgemeinen nach, sondern speziell Phenolasen. Es scheint aber so zu sein, daß immer und überall die Phenolasen mit unspezifischeren Oxydasen gemeinsam vorkommen, so daß die Phenolasen-Reaktion als *pars pro toto* für beweisend gelten darf.

Unfixierte Schnitte aus Rinder-Trigeminus-Ganglien wurden dem Reagenz ausgesetzt, die positive Reaktion zeigt sich durch dunkelblaue Granulafärbung an, die über die ganze Zelle verteilt ist und nur den Nucleus ausgespart läßt. In einigen Fällen scheint das Karyoplasma jedoch einzelne Fermentgranula zu enthalten, was aber nicht unbedingt dafür sprechen muß, daß hier intravital wirklich Enzymaktivität entsteht. Vielmehr könnten die Granule bei der Präparation artefiziell dorthin gelangt sein, vielleicht auch durch postmortale Diffusion. Überhaupt scheinen in einigen Zellen größere Fermentmengen durch Diffusion verlagert zu werden. Die großen Zellen zeigen fast ausnahmslos hohe Aktivität (Abb. 4), in den anderen ist das nicht unbedingt der Fall. Die kleinsten und multangulären Zellen zeigen Variabilität (Abb. 4), jedoch die multangulären meistens kräftigere Enzymfärbung als die färbehistologisch "dunklen" kleinen Elemente. Auch bei den kleinen Zellen ist nicht sicher zu entscheiden, ob der Kern Fermentaktivität enthält oder nicht. Die beigegegebene Abbildung 5 einer großen Zelle zeigt einige wenige Granula im Nucleus, wie oben schon geschildert wurde. Die Satellitenzellen enthalten offenbar keine Oxydasen, dagegen stellen sich die Nervenfasern deutlich als fermenthaltig dar. Die Schrumpfung des Cytoplasmas bleibt in geringen Grenzen.

- 3.) Succinodehydrase: In dieser Versuchsreihe zeigten die Perikarya intensive Fermentaktivität, die durch eine purpurne Farbbildung an den Fermentprotein-Granula nachgewiesen wird. Häufig scheint das Ferment über das ganze Cytoplasma in verschiedener Anordnung verstreut zu sein. Einige der größten Zellen zeigten besonders hohe Aktivität (Abb. 6). Aber auch einige der größeren multangulären Elemente und auch einige kleine Zellen wiesen höhere Enzymkonzentration auf (Abb. 7). Schwache Reaktion wurde ebenfalls sowohl an multangulären als auch an normal-runden kleinen und großen sensiblen Zellen beobachtet. Eine Regelmäßigkeit war hierin nicht festzustellen. In einigen Fällen scheint auch das Karyoplasma Aktivität aufzuweisen, was aber wahrscheinlich durch eine postmortale Diffusion des Fermentes erklärt werden muß. Die Satelliten zeigen keine einheitliche Fermentanordnung und -dichte. Jeder Zellkern in den sensiblen Perikarya ist von einer hellen fermentfreien Zone umgeben (Abb. 8). Das Cytoplasma zeigt geringfügige Schrumpfung, was damit zu tun haben dürfte, daß mit unfixierten Gefrierschnitten gearbeitet wird. Um die Spezifität der Reaktion zu überprüfen, wurde nach dem Vorschlag von NEUMANN (1952) Malonsäurekontrolle durchgeführt. Zunächst wurde im Fermentansatz die Bernsteinsäure in stöchiometrischer Konzentration durch Malonsäure ersetzt, was zur Folge hatte, daß nach einer halben Stunde Aufenthalt im Brutschrank keine Reaktion eintrat. Mischung von gleichen Teilen Malon- und Bernsteinsäure anstelle reiner Bernsteinsäure bedingte Farblosigkeit selbst nach 1 1/2 Stunden Bebrütung. Da Malonsäure spezifisch die Bernsteinsäuredehydrase vergiftet, dürfte hinreichend nachgewiesen sein, daß die Farbreaktionen der oben geschilderten Ansätze echte Fermentreaktionen waren.
- 4.) Alkalische Phosphatase: Nach dem Vorschlag GOMORIS wurden frische Gefrierschnitte für diese Versuchsreihe verwandt. Die Färbungsintensität der einzelnen Zellen des Ganglion semilunare variiert bedeutend, was ein sicheres Zeichen dafür ist, daß die Perikarya das Ferment in verschieden hoher Konzentration enthalten (Abb. 9). Einige Zellen zeigen ohne die Möglichkeit einer Zuordnung zu einer bestimmten Größenklasse eine wesentlich höhere Aktivität als andere gleichgroße Zellen. Eine absolut sichere Zuordnung des Aktivitätsgrads zu einer bestimmten Größenklasse ist also nicht möglich. In einzelnen großen Zellen zeigen tiefgefärbte Cytoplasmabezirke an, daß sich dort eine besonders hohe Aktivität in umschriebenen Zonen findet. Während bei den meisten Zellen der Kern nicht sicher erkenntlich ist, weil das Perikaryon im ganzen stark

geschwärzt ist, zeigen andere die helle Zone des ausgesparten Karyoplasmas außerordentlich deutlich. Es scheint manchmal auch der Kern eine gewisse Fermentaktivität aufzuweisen, eine enzymfreie circumnucleäre Endoplasmazone ließ sich in keiner Zelle nachweisen. Die Aktivität der Satellitenzellen schwankt in weitem Maße, wie sich an der abgestuften Färbungsintensität zeigt, die von eben gerade angedeuteter bis zu intensivster Schwärzung reicht. Die multangulären Zellen rekrutieren sich aus großen und kleinen Perikarya, sie weisen im allgemeinen besonders hohe Aktivität auf. Die Nervenfasern enthalten reichlich alkalische Phosphatase, und zwar sind die Achsenzyylinder geschwärzt. Die Schrumpfung des Gewebes ist nur mäßig.

- 5.) Saure Phosphatase: Wurden die Ganglien vor der histochemischen Behandlung in Aceton fixiert und in Schnitte von $10\ \mu$ zerlegt, so ergab sich folgendes Bild. Die Zellen sind einschließlich ihrer Ausläufer intensivst geschwärzt, etwa so, wie die Zellen sich nach optimal gelungener Versilberung nach GOLGI darbieten (Abb. 10). Dies könnte als Beweis dafür genommen werden, daß die Neurone der sensiblen Ganglien eine außerordentlich hohe Aktivität aufweisen oder aber vielleicht, daß aus unerklärlichen Gründen eine Pseudo-Reaktion abgelaufen ist. Kleine Zellen, große Zellen und auch multanguläre Formen lassen sich gegeneinander abgrenzen, jedoch nur an der Gestalt und Größe, aber nicht nach der Färbungsintensität. In manchen Zonen des Ganglions scheinen die Satelliten besonders hohe Aktivität aufzuweisen, sie stellen sich intensiv schwarz dar. Ein Zellkern ist fast nie vom Cytoplasma abzugrenzen. Wie eingangs erwähnt, reagieren die Fortsätze kräftig, so daß kaum noch erwähnt zu werden braucht, daß sich die Nervenfasern überall scharf vom Untergrund abheben. Es sind besonders auch in diesem Experiment die Achsenzyylinder Träger der Reaktion.

Nach Fixation in absolutem Alkohol wurden ebenfalls $10\ \mu$ dicke Schnitte hergestellt. Im Gegensatz zu den homogen geschwärzten Anschnittflächen der Perikarya nach Acetonfixierung zeigen sich in dieser Reihe die Schwärzungen in granulärer Anordnung (Abb. 11). Es ist schwer zu entscheiden, welche Form der Enzymeinlagerung dem vitalen Status näher kommt, die diffuse oder die granuläre. Es scheint aber doch während der Alkoholfixierung ein Teil der sauren Phosphatase entweder seine Aktivität zu verlieren oder aber in den Alkohol abzudiffundieren, ausgenommen der Kern. Es könnte demnach sein, daß die Acetonfixierung re-

alere Bilder hervorbringt. Wenige der ganz großen Zellen zeigen auffällig hohe Fermentaktivität, die denen der kleinsten Zellen gleichkommt. Ansonsten geben besonders die kleinen Zellen hohe Fermentkonzentration. Die größte Fermentdichte scheint sich längs der Zellperipherie anzuordnen, was wiederum ein Hinweis auf Artefaktbildung durch Diffusion während der Alkoholfixation sein könnte. Die Hüllzellen (Satelliten) weisen eine besonders intensive Schwärzung auf, sie scheinen unter dem Alkoholeinfluß nichts an ihrer Fermentaktivität verloren zu haben, besonders an der Außenseite finden sich in großer Zahl Granula im Cytoplasma dieser Hilfszellen, was dafür spricht, daß besonders im perikaryonfernen Teil des Satellitenzellplasmas die saure Phosphatase gehäuft ist. Die Nervenfasern sind wiederum dargestellt.

Die Schrumpfung der Neurone bleibt sowohl nach Aceton - als auch Alkohol-Fixation in mäßigen Grenzen.

- 6.) Glykogen: Nach Fixation in CARNOYschem Gemisch und anschließender Paraffineinbettung wurden Schnittpräparate vom Ganglion semilunare des Rindes hergestellt und nach der Originalmethode von BAUER eingefärbt. Nach dem Glykogengehalt lassen sich sehr gut große "helle", kleine "dunkle" und multanguläre Zellen voneinander unterscheiden (Abb. 12). Der Ausfall der Färbung zeigt deutlich an, daß besonders in den kleinen Zellen geringe Konzentrationen von Glykogen enthalten sind. Die großen Zellen sind dagegen fast kohlenhydratfrei, was der gültigen Lehrmeinung der Biochemie entspricht, nach der im Nervensystem nennenswerte Kohlenhydrateserven nicht gespeichert werden sollen. Etwas höhere Glykogenkonzentration als in den kleinen "dunklen" Zellen findet sich in den multangulären Elementen. Gegenüber den Neuronen enthalten die Satelliten eine erstaunlich hohe Anhäufung an Glykogen, sie scheinen also auch in bezug auf die Kohlenhydrate die Stoffwechselhilfszellen des Perikaryons zu sein. Die Zellkerne sind deutlich in ihrem Inneren glykogenfrei, nur die Kernmembran und der Nucleolus ergeben ziemlich regelmäßig eine positive Reaktion. Um den Kern herum läßt sich nicht mit Sicherheit eine glykogenfreie Zone ausmachen. Multangulär gestaltete Zellen kommen in allen Größen vor. Die Nervenfasern zeigen eine höhere Reagibilität als die Perikarya. Methode nach BAUER ruft an den Neuronen erhebliche Schrumpfung hervor.

- 7.) Perjodsäure-Leukofuchsin-Reaktion auf Polysaccharide: Bei Anwendung der Originalmethode von HOTCHKISS stellen sich die großen Zellen "hell"

dar, d.h. sie bleiben fast ausnahmslos ungefärbt. Die kleinen "dunklen" und multangulären Zellen dagegen werden recht deutlich angefärbt (Abb. 13), wobei aber auch Ausnahmen beobachtet werden. Die Abweichungen in der Färbungsintensität sind geringfügig, einige kleinste und multanguläre Elemente zeigen jedoch eine besonders hohe Färbeintensität. Im allgemeinen gilt das, was schon für das Glykogen gesagt wurde, nämlich, daß die Kohlenhydratreserve in den Neuronen gering ist. Die Satellitenzellen zeigen wiederum eine kräftige Färbung. Die Nervenfasern stellen sich noch kräftiger dar, offenbar ist aber der Polysaccharidgehalt auf die SCHWANNschen Zellen beschränkt, die wie die Satelliten zu den Stoffwechselhilfszellen des peripheren Nervensystems gehören. Cytoplasmaschrumpfung ist bei zahlreichen Zellen bedeutend.

E) DISKUSSION

In vorliegenden Untersuchungen wurden die Ganglienzellen des Ganglion semilunare des Rindes repräsentativ für sensible Ganglien im allgemeinen mit histochemischen Methoden angegangen und als enzymhaltig befunden. Sie enthielten in mehr oder weniger hoher Konzentration verschiedenartige Fermente: Oxydasen, Peroxydasen, Phosphatasen und Succidehydrasen. Der Nachweis wurde mit anerkannten Methoden geführt, die durchweg Farbreaktionen bei vorhandener Fermentaktivität ergeben. Die Fermenteiweiße sind fast ausnahmslos in Form feinsten Granula im Cytoplasma verteilt. Einzelne Zelltypen zeigen hohe Aktivität, während anderen nur eine niedere Enzymkonzentration zugehört. Nicht in allen Fällen sind die Enzymgranula gleichmäßig über das ganze Cytoplasma verteilt, sondern manchmal ist die Aktivität auf eine dunkle Zone rund um das Cytoplasma gelagert.

In dieser Studie wurden außer beim Peroxydase-Nachweis keine sicheren Befunde für das Vorhandensein multipler Zellausläufer gefunden, die Enzymaktivitäten enthielten. Die Satellitenzellen scheinen der Sitz hoher Fermentkonzentrationen zu sein, wie auch in den meisten Fällen die Initialglomerula der sensiblen Perikarya und die Nervenfasern.

Multanguläre Zellformen wurden bei Anwendung aller Methoden gefunden, weshalb sie wahrscheinlich eher als genuine Typen denn als Artefakte zu gelten haben. Sie wurden jedenfalls in allen Präparaten ohne Rücksicht auf Fixation oder sonstige Vorbehandlung gleichermaßen beobachtet, insbesondere konn-

te keinerlei sichere Abhängigkeit von der Formaldehydbehandlung bemerkt werden. Wirkliche Schrumpfungen der Ganglienzellen traten eigentlich nur bei Anwendung der sauren und alkalischen Phosphatasereaktion auf. Die "dunklen" multangulären Zellen waren stets gleichzeitig mit typischen Artefaktformen im gleichen Präparat zu beobachten. Die Enzymaktivität wurde in verschiedenen Abstufungen - gemessen an der Farbintensität - gesehen. Für den speziellen Fall der Phosphatasereaktionen wurden vergleichsweise Ganglien in Aceton und absolutem Alkohol gehärtet. Dabei wurde beobachtet, daß Aceton und selbst absoluter Alkohol nur geringfügige Schrumpfung bedingten. Es scheint aus den vergleichenden Beobachtungen auch ziemlich sicher zu sein, daß die Fermentreaktionsintensität sehr von der Wahl des chemischen Fixationsmittels, nicht aber vom Schrumpfungsgrade, der mit der speziellen Fixation verbunden ist, abhängt. Dies wurde besonders deutlich beim Vergleich der Reaktionsintensität bei der histotopochemischen Lokalisation der sauren Phosphatase einmal nach Aceton- und zum anderen nach Alkohol-Fixation. Vergleichsweise zeigte sich nämlich hier, daß die intensivste Schwärzung in acetonfixierten Schnitten erfolgte, wo andererseits die Schrumpfung noch wesentlich geringer als nach Alkoholbehandlung war. Nach Alkoholfixation zeigte sich trotz etwas stärkerer Schrumpfung nur eine außerordentlich schwache Fermentfärbung.

Die multangulär gestalteten Zellen nehmen nach histotopochemischer Enzymlokalisation unterschiedliche Farbintensitäten an, d. h. sie schwanken oft von dunkler bis zu heller Farbe. Beim Nachweis saurer Phosphatase erscheinen sie intensiv schwarz wie die runden Normalformen. Bei Anwendung der PAS-Reaktion auf Polysaccharide zeigen die verschiedenen Zelltypen weitgehend gleiche Farbintensität bei großer Übereinstimmung der Färbung, in der Reaktion nach BAUER auf Glykogen sind sie bei variabler Größe und Färbeintensität zu beobachten. Da eigentlich immer sehr wenige kleine "dunkle" Zellen beobachtet wurden, scheinen die großen und kleinen "hellen" zu dominieren, wobei beide "hellen" Typen etwa in gleicher Häufigkeit vorkommen. Diese Befunde legen durchaus die Deutung nahe, daß die multangulären Zellen funktionstüchtige und nicht degenerierte Elemente vorstellen. Bei Anwendung der Peroxydasereaktion erscheinen keine ausgesprochen "dunklen" Zellen, dagegen relativ wenig, aber typische, gefensterte Elemente mit multiplen Paraphyten des Cytoplasmas. Diese "pseudomultipolaren" Formen stellen sich deutlich dunkler dar als die vergleichbaren normalen Zellen der Nachbarschaft. Die Prüfung auf Oxydase gab den eindeutigen Hinweis darauf, daß

solche Enzyme - speziell Phenolasen - in hoher Konzentration vorhanden sind, der Kern scheint in einigen Fällen selbst auch Oxydasegranula zu enthalten, in anderen nicht. Alle Zellen - auch die abweichenden - zeigen, daß sie reich an Succinodehydase sind. Multanguläre Zellen werden durch die NEUMANNsche Reaktion regelmäßig in allen Präparaten dargestellt. Der Nachweis alkalischer Phosphatase bringt eine größere Anzahl "dunkler" Zellen zum Vorschein, vor allem nach Fixation in absolutem Alkohol, mehr als in anderen Experimenten. Es ist möglich, daß die kleinen, irregulären "dunklen" Zellen Spezialformen nach Trauma oder während pathologischer Prozesse sind. Aber es ist schwer vorstellbar, daß solche Formen nur durch Fixation hervorgerufen werden. Es ist vielmehr so, daß diese Formen auch nach Größe und Anordnung der NISSL-Granula im Cytoplasma zu differenzieren sind. HOSSACK und WYBURN (1954) waren auch der Meinung, daß die beiden Typen "hell" und "dunkel" im wesentlichen ihre färberischen Eigenschaften bzw. ihr unterschiedliches Elektronenabsorptionsvermögen der Größe und der Dichtigkeit der NISSL-Aggregate verdanken. Als dritten Typ erkennen diese beiden Autoren auch nach elektronenmikroskopischer Untersuchung "dunkle" multanguläre Perikarya an. SCHARF (1951) war der erste, der bei Warmblütern lipoidhaltige Grenzmembranen an Spinalganglienzellen fand, nachdem CHINN (1938) solche beim Frosch beobachten konnte. Nach SCHARF sind es die kleinen Zellen, die sich aufgrund ihres höheren Lipidgehaltes "dunkel" darstellen, und die, abweichend von den großen "hellen", regelmäßig lichtmikroskopisch sichtbare Lipoidhüllen um das Ektoplasma zeigen. Diese Scheide oder besser Grenzmembran zeigt denselben Aufbau wie die Markscheide der Nervenfasern.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Histochemische Bestimmungen der Aktivität einiger Fermente (Peroxydasen, Oxydasen, alkalische und saure Phosphatasen und Bernsteinsäuredehydrogenase) zeigen, daß große "helle" und kleine "dunkle" Spinalganglienzellen unter allen Versuchsbedingungen nachweisbar sind. Zwischen beiden Typen kommen Übergangsformen vor, so seltener große "dunkle" und kleine "helle" Elemente. Die beiden Zelltypen sind nicht von der Vorbehandlung abhängig, so daß sie auch nicht als Artefaktmorphen aufgefaßt werden dürfen. Insbesondere ist deutlich, daß die "dunklen" Elemente nicht durch Schrumpfung entstehen, sondern einen genuine Zelltyp repräsentieren. Nicht immer stimmt die Häufigkeit der Enzymgranula mit der Dichte der Tigroidpartikel überein, so daß die Häufigkeit "dunkler" und "heller" Zellen im Ferment- und NISSL-Präparat nicht genau übereinstimmt.
2. Glykogen und PAS-positive Substanzen sind in sensiblen Nervenzellen in geringer Konzentration vorhanden, wenn man das endoneurale Bindegewebe zum Vergleich heranzieht. Es lassen sich aber auch anhand der Kohlenhydratkonzentration "helle" und "dunkle" Elemente unterscheiden, wobei deutliche Übereinstimmungen mit dem NISSL-Bild bestehen: Die kohlenhydratreichen Zellen sind im allgemeinen auch die "dunklen" Zellen des NISSL-Bildes.
3. Im Ganglion semilunare nervi trigemini des Rindes wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen keine wirklichen multipolaren Zellen gefunden, die mit solchen aus dem vegetativen Nervensystem vergleichbar wären. Häufig fanden sich dagegen - besonders bei älteren Tieren - pseudomultipolare Zellen, insbesondere solche vom "gefensterten" Typ mit zahlreichen Paraphyten.
4. Multanguläre Zellen wurden mit allen Methoden nachgewiesen, ohne daß eine Abhängigkeit von der Vorbehandlung bestünde. Sie dürften daher einen genuine Zelltyp repräsentieren, ohne jedoch wirklich multipolar zu sein.

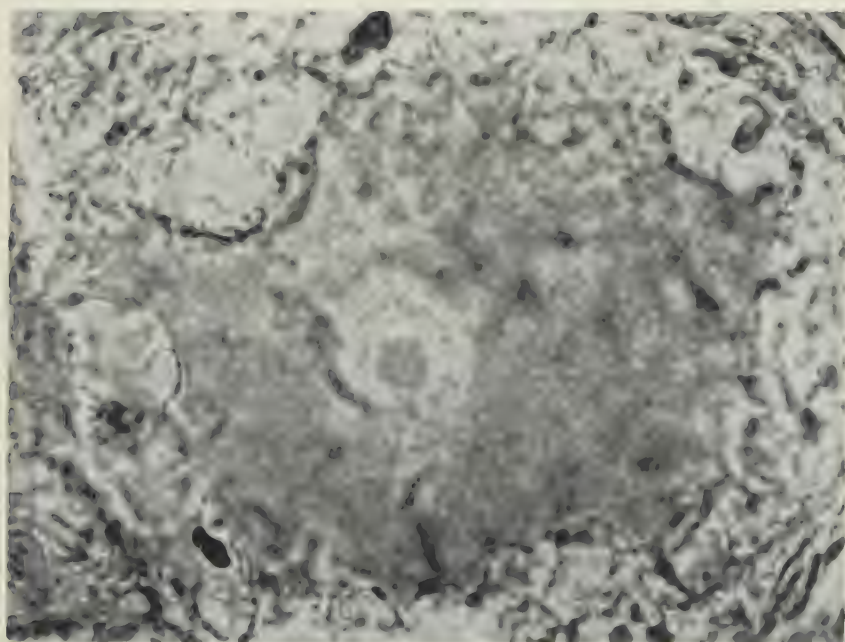
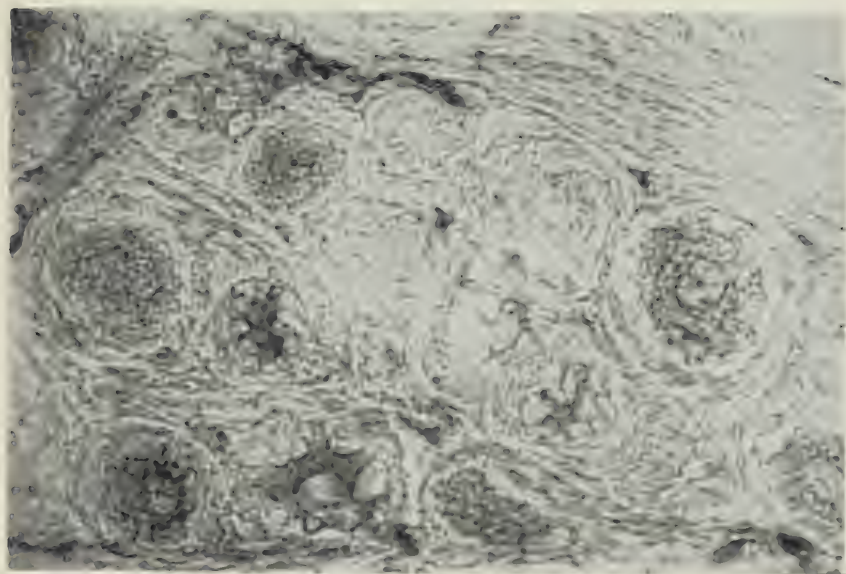
SUMMARY

1. Histochemical determination of the activity of some Ferments, (viz. Peroxidases, Oxidases, Alkaline and Acid Phosphatases, and Succinic Acid Dehydrogenase) indicates that under all experimental conditions the large "light" and small "dark" spinal ganglion cells can be demonstrated. Transitional forms between these two types are evident, and their paucity in a field of large "light" and small "dark" cells was not patent. Both these cell types should not be countenanced as artefacts, particularly since their existence is completely independent of the incipient treatment to which the material was subjected. The "dark" elements undoubtedly represent a genuine cell type and this is not the result of shrinkage. The incidence of the "dark" and "light" cells both in the Ferment as well as in the Nissl preparations was not always precisely numerically similar having regard to the fact that the multiplicity of the enzymatic granules did not in every case synchronise with the conglomeration of the Tigroid particles.
2. Glycogen and PAS-positive substances were present in lower concentrations in sensory nerve cells than in endoneural connective tissue. The respective Carbohydrate concentrations permit a differentiation to be established between the "light" and the "dark" elements and this presented a definite conformity with the Nissl picture. Generally speaking the "dark" cells of the Nissl picture are those which are rich in Carbohydrates.
3. Within the scope of the present analysis no multipolar cells per se were demonstrated in the Semilunar ganglion of the Trigeminal Nerve of the ox such that a comparison with those of the Vegetative Nervous System could be drawn. On the other hand pseudomultipolar cells with specific reference to those of the "fenestrated" type containing numerous paraphtes were frequently encountered, particularly in the older animals. Multangular cells were demonstrated with all methods applied without in any way being connected with the previous treatment which the material underwent. In consequence, this may represent a genuine cell type without necessarily being multipolar.

ABBILDUNGEN

Abb. 1 Peroxydasenachweis. Das Ferment wird durch einen blauen Niederschlag nachgewiesen. Das Photogramm zeigt in den einzelnen Zellen schwankende Höhe der Aktivität. Beachte die multangulären Zellen mit ihren zahlreichen Paraphyten. 230 : 1

Abb. 2 Peroxydasenachweis. Bei starker Vergrößerung zeigt die pseudomultipolare Zelle sehr deutlich Paraphytenabgänge und Vakuolen sowie die Enzymgranula im Cytoplasma. Es scheint auch im Zellkern schwache Aktivität (Einzelgranula!) vorhanden zu sein. 935 : 1



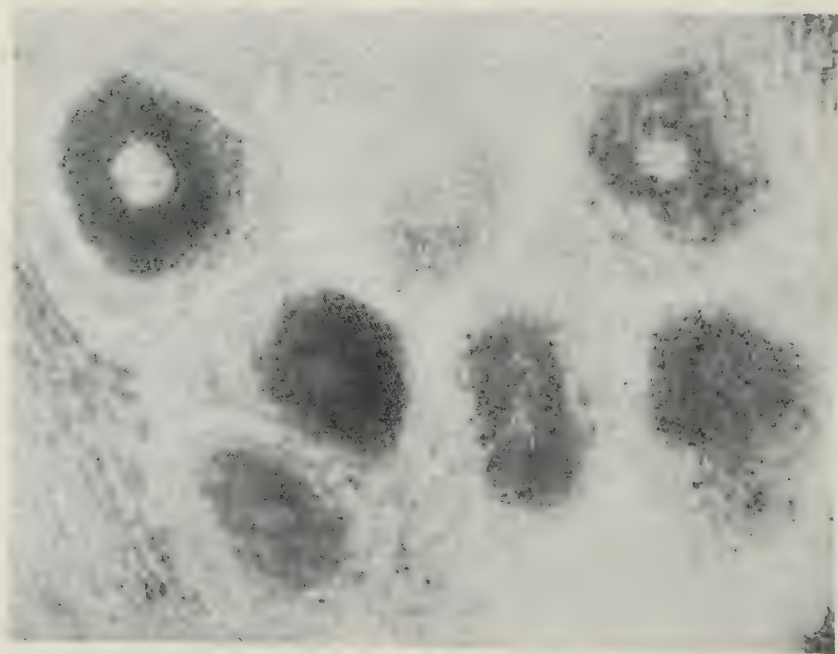
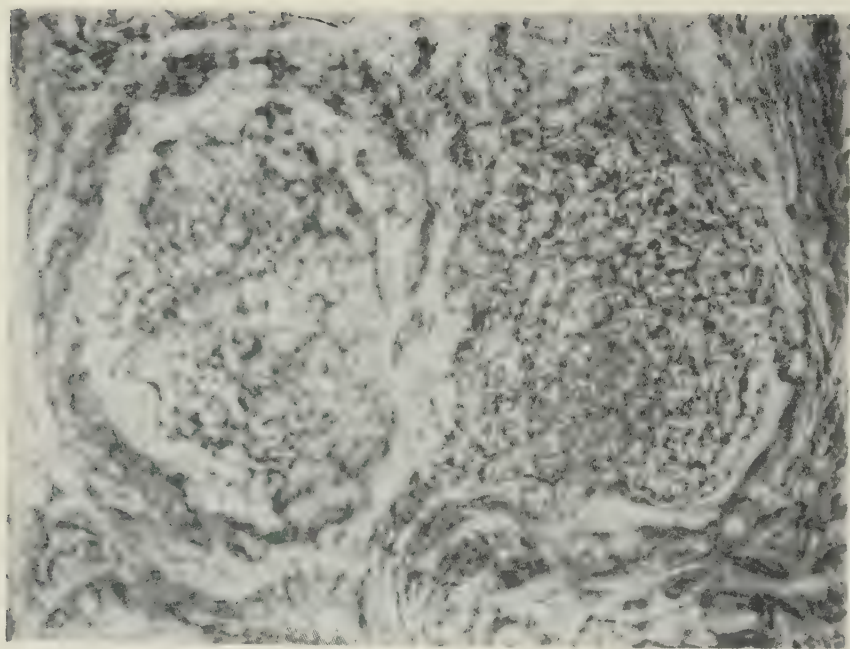
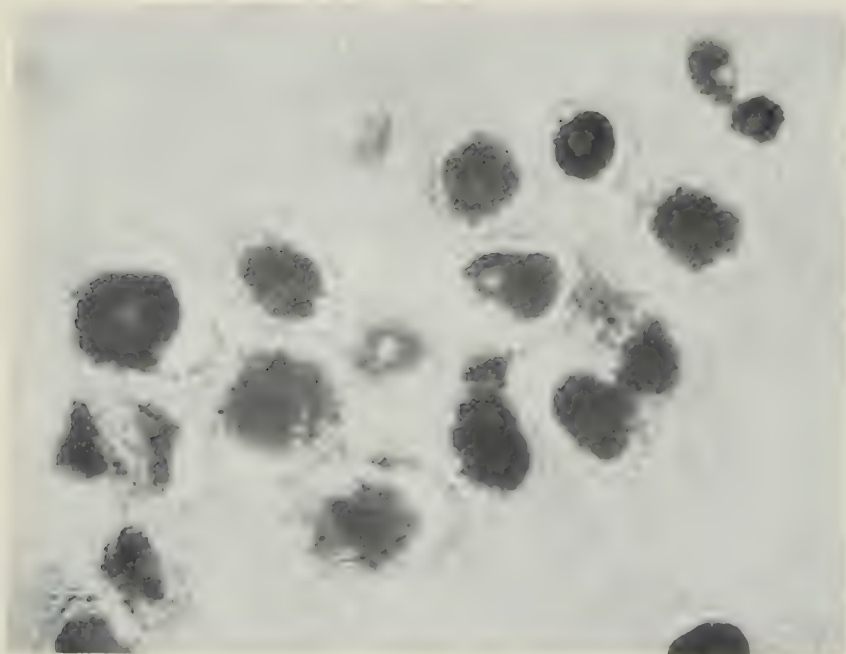
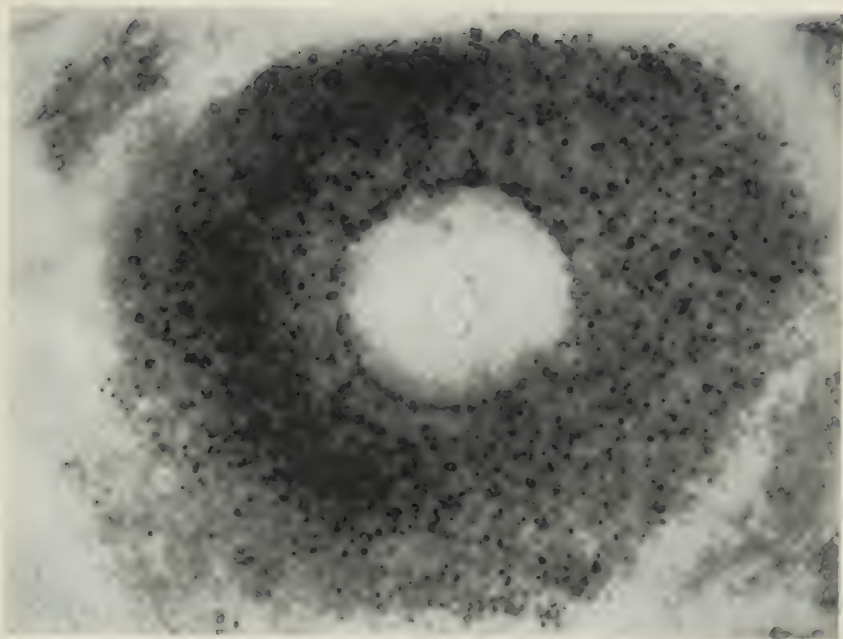


Abb. 3 Peroxydasenachweis. Bei stärkerer Vergrößerung ist deutlich sichtbar, daß die Aktivität an Granula gebunden ist. Die Satellitenzellen zeigen ebenfalls Aktivität, nur schwache die Neuriten. 570 : 1

Abb. 4 Oxydasenachweis. Abbildung zeigt neben unterschiedlich intensiv gefärbten vor allem auch "dunkle" Zellen. Deutlich sind die präzipitierten Granula erkennbar, dunklere Cytoplasmazonen sind Orte höherer Aktivität. Der Zellkern ist enzymfrei, dagegen zeigen Satelliten und Nervenfasern geringe Aktivität. 265 : 1

Abb. 5 Bei starker Vergrößerung wird das Präzipitat eindeutig in große Granula aufgelöst. Da der Zellkern völlig frei von Aktivität ist, werden Karyo- und Cytoplasma scharf unterscheidbar. Satelliten zeigen, wie auch die Nervenfasern, schwache Aktivität. 935 : 1

Abb. 6 Bernsteinsäuredehydrogenase. Die Zellen zeigen kräftige Aktivität. Deutlich treten die Enzymgranula hervor, die in einigen Elementen besonders dicht gelagert sind. Multanguläre Elemente sind vorhanden. Satelliten und auch Nervenfasern zeigen etwas Aktivität. Die Protoplasten einiger Neurone sind deutlich geschrumpft. 230 : 1



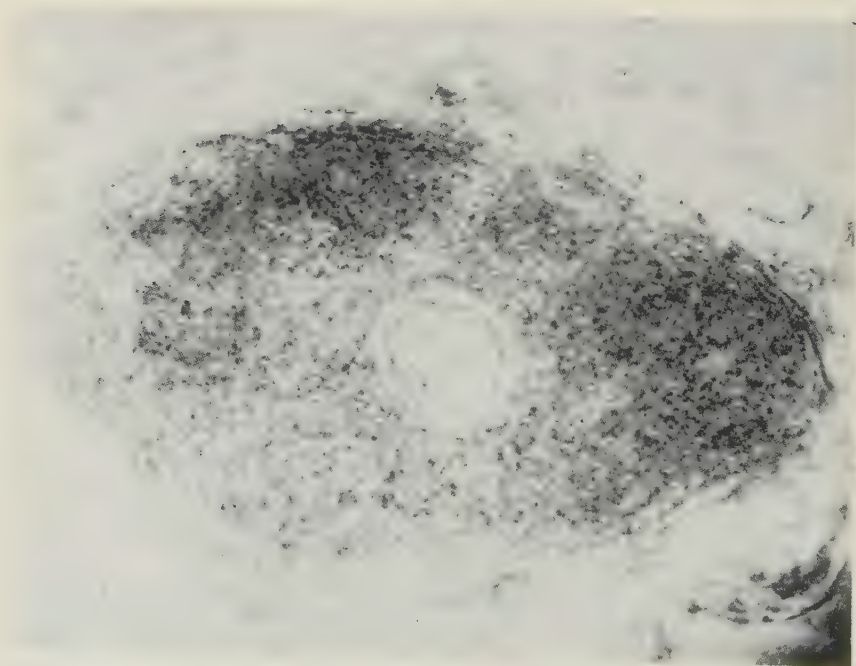
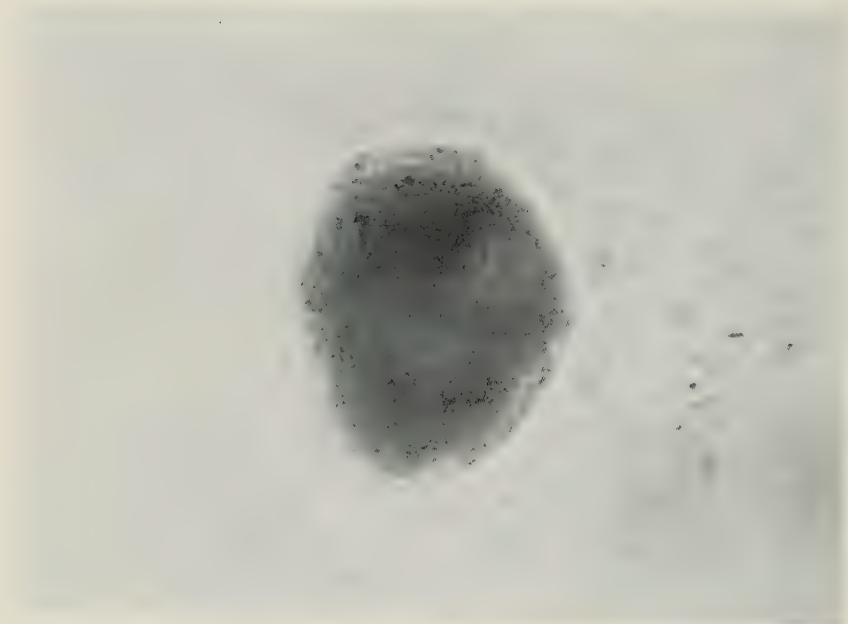
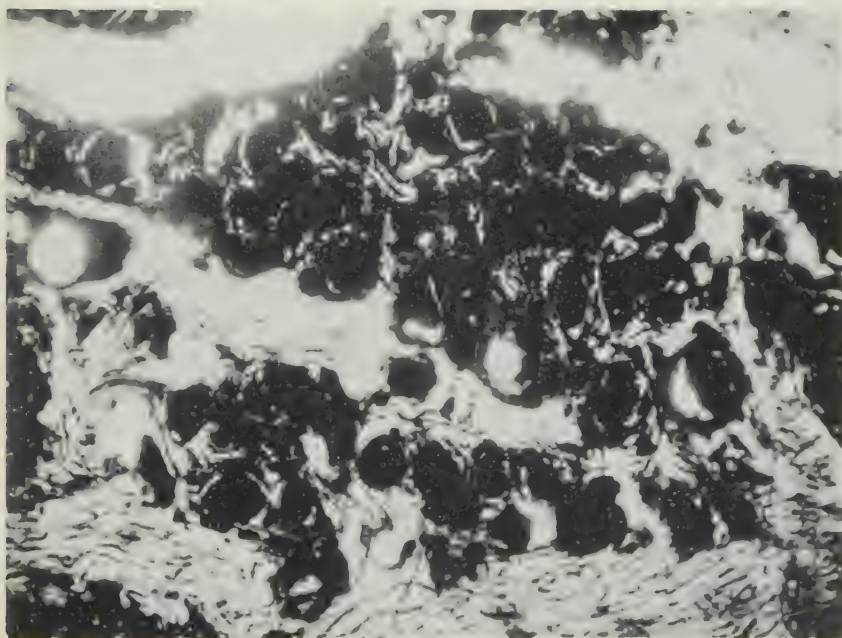
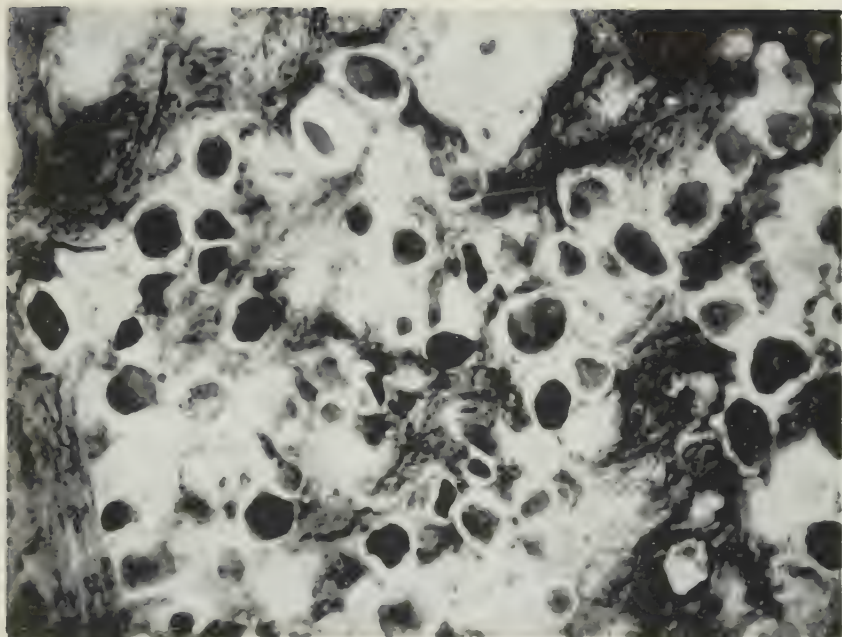


Abb. 7. Bernsteinsäuredehydrogenase. Das Bild zeigt eine kleine, reguläre Zelle bei starker Vergrößerung. Hohe Aktivität ist besonders im Mittelpunkt des Perikaryons zu sehen. Der Zellkern ist nur schwer auszumachen, möglicherweise enthält er etwas Enzymaktivität. In den Satelliten finden sich einige Fermentgranula. 935 : 1

Abb. 8. Bernsteinsäuredehydrogenase. Bei starker Vergrößerung zeigt sich die granuläre Anordnung des Fermentes. Einige Cytoplasmazonen weisen höhere Aktivität auf, die Circumnucleärzone ist dagegen fermentfrei. Aktivität auch in den Satelliten. 935 : 1

Abb. 9 Alkalische Phosphatase. Die Zellen zeigen unterschiedliche Farbintensität, die dunkelsten Zellen sind die fermentreichsten. Multanguläre Elemente kommen in verschiedener Größe vor. Die Satelliten zeigen nur geringe Aktivität. 92 : 1

Abb. 10 Saure Phosphatase. Alle Zellen sind tiefschwarz gefärbt, multanguläre Elemente vorhanden. Auch die großen regulären (runden) Perikarya sind intensiv geschwärzt, wie auch die Satelliten große Aktivität zeigen. Nervenfasern geben ebenfalls kräftig positive Reaktion. Möglicherweise ist die intensive Färbung nicht unbedingt beweisend für hohe Aktivität. Aceton-Fixation. 92 : 1



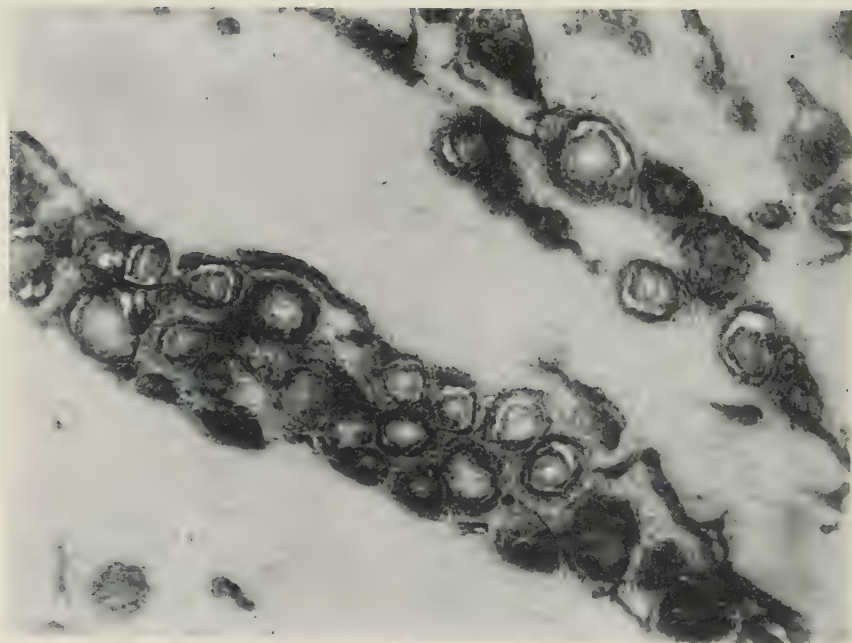
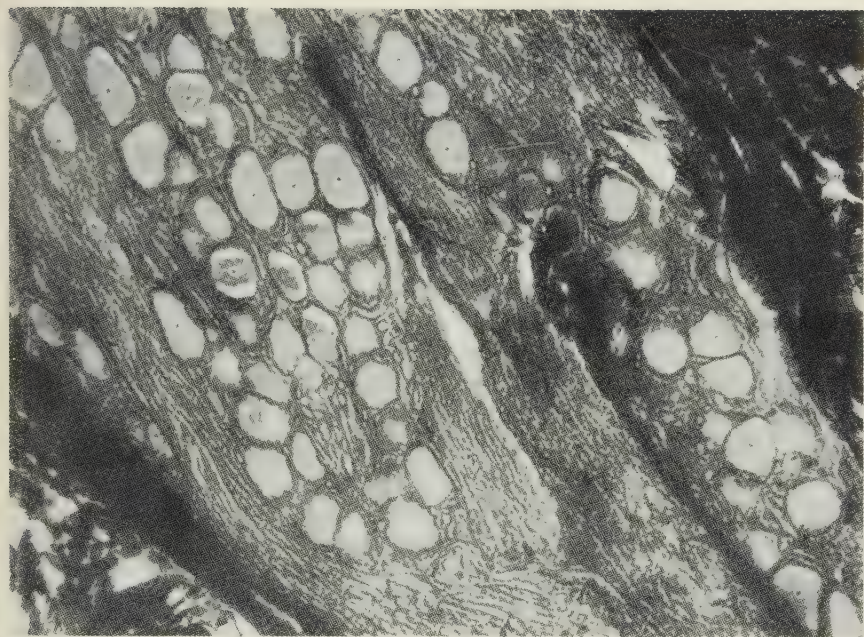


Abb. 11 Saure Phosphatase. Die meisten Zellen zeigen Konzentration der Enzymaktivität längs der Zellgrenzen. Die Satellitenzellen weisen hohe Aktivität auf, wenige multanguläre Formen sind unter den sensiblen Zellen sichtbar. Nervenfasern zeigen nur schwache Aktivität. Beachte den Unterschied zu Abb. 10, der ein acetontfixiertes Präparat zugrundeliegt!
Fixation in absolutem Alkohol. 92 : 1

Abb. 12 Glykogennachweis nach BAUER. Die Abb. zeigt Perikarya aller Größenklassen: Große und kleine runde, sowie multanguläre Formen. Die "dunklen" Zellen weisen höhere Glykogenkonzentration auf und sind im Original kräftig rot gefärbt. Die Satelliten erscheinen dunkler als die Nervenzellen, da sie besonders reich an Kohlenhydraten sind. Der Zellkern ist mit Ausnahme des Nucleolus ungefärbt. Die Nervenfasern scheinen etwas Glykogen zu enthalten, möglicherweise in den SCHWANNschen Zellen lokalisiert. 92 : 1

Abb. 13 PAS-Reaktion (Perjodsäure-Leukofuchsin-Nachweis für Polysaccharide). Die Zellen der sensiblen Neurone scheinen arm an Polysacchariden zu sein. Nur einige Zellen erscheinen dunkler als die übrigen gefärbt. Die Abstufung der Färbeintensität bleibt in geringen Grenzen. Multanguläre Zellen verschiedener Größe werden dargestellt. Besonders dunkle Färbung der Satelliten, die offenbar reich an Polysacchariden sind. Zellkern ungefärbt. Die Nervenfasern scheinen reich an Polysacchariden zu sein. 92 : 1



F. LITERATURVERZEICHNIS

- BACSICH, P. and WYBURN, G. M. : Quart.J. Microsc. Sci. 94, 89-92 (1953)
- BARRIS, R. W. : J. Comp. Neurol. 59, 325-339 (1934)
- BLAIR, D. M. ; BACSICH, P. and
DAVIES, F. : J. Anat. (Brit.) 70, 1-9 (1936)
- BIELSCHOWSKY, M. : Allgemeine Histologie und Histopathologie des Nervensystems. In: Bumke-Foersters Handbuch der Neurologie, Bd.1, S.35-226. Berlin, Springer-Verlag 1935.
- BÜHLER, A. : Verh.phys.-med.Ges. Würzburg N.F. 31, 285-392 (1898)
- BURKHARDT, E. G. : Acta anat. (Basel) 17, 253-263 (1953)
- CHINN, P. : J. Cell. a. Comp. Physiol. 12, 1-21 (1938)
- CLARK, S. L. : J. Comp. Neurol. 41, 423-451 (1926)
- DAWSON, I. M., HOSSACK, J.
and WYBURN, G. M. : Proc. Roy. Soc. London B 144, 132-142 (1955)
- FISHER, C. and RANSON, S. W. : J. Anat. (Brit.) 68, 1-10 (1934)
- FLEMMING, W. : Vom Bau der Spinalganglienzelle. In: Beiträge zur Anatomie und Embryologie als Festgabe für Jacob HENLE. S. 12-25, Bonn, Cohen 1882
- FLESCH, M. und KONEFF, H. : Neurol. Zbl. 5, 145-147 (1886)
- HATAI, S. : J. Comp. Neurol. 11, 1-24, 25-39 (1901)
J. Comp. Neurol. 12, 107-124 (1902)
J. Comp. Neurol. 13, 177-183 (1903)
- KISS, F. : J. Anat. (Brit.) 66, 488-498 (1932)
- KONEFF, H. : Mitt. Naturforsch. Ges. Bern 1886, 13-44 (1887)

Dem Direktor des Anatomischen Instituts, Herrn Professor Dr. Dr. A. Dabelow, sei an dieser Stelle ergebenst für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und Bereitstellung der Mittel gedankt, Herrn Professor Dr. Dr. J. H. Scharf für Anregung und Förderung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 26. April 1922 wurde ich, Clyde P. Rowe, als ehelicher Sohn von Plumus C. Rowe und Mary L. Rowe geb. Boozer in Philadelphia (Pennsylvania, USA) geboren. Meine Mutter, Absolventin des South Carolina State College, war früher Lehrerin. Mein Vater promovierte an derselben Hochschule wie meine Mutter, er war ebenfalls als Lehrer tätig. Er verstarb am 28. August 1955.

Meine Ausbildung begann im 6. Lebensjahre an der Volksschule zu Philadelphia, wo ich auch die höhere Schule absolvierte.

Durch meine Einberufung zur Kriegsmarine der USA im zweiten Weltkrieg mußte ich meine Berufsausbildung unterbrechen. Nach Entlassung aus dem Wehrdienst nahm ich an Vorbereitungskursen für das Hochschulstudium teil, so daß ich mich im September 1947 an der Lincoln-Universität immatrikulieren konnte. Im Juni 1952 erwarb ich den Grad eines Bachelor of Arts (B. A.) als Hauptfachbiologe. Schließlich wechselte ich im November 1952 zur Universität München über. Seit November 1954 studiere ich in Mainz Medizin, wo ich im Februar 1955 das Physikum bestand und auch das Staatsexamen ablegen möchte.

Gedruckt bei Ditters Bürodienst, Mainz, Augustinerstraße 64-66.

